ACADÉMIE DE PARIS

UNIVERSITÉ RENÉ-DESCARTES

Année 1971 N° 70

# THÈSE

POUR LE

## DOCTORAT EN CHIRURGIE DENTAIRE

(Thèse de 3eme cycle)

par

**Didier, Paul LOBJOIE**

Né le 2 Juin 1937 à Paris

*Docteur en médecine dentaire de l'Université de Genève*

*Présentée et soutenue publiquement le*

# ÉTUDE BIOPHYSIQUE DES MODIFICATIONS DE L'ÉMAIL DENTAIRE PROVOQUÉES PAR L'APPLICATION LOCALE ET L'INGESTION DE FLUOR

Président de Thèse : Monsieur Gérard MILHAUD (Professeur)

DACTYLO-SORBONNE

8, Rue Casimir-Delavigne

PARIS 6e

1971

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543511_0032

ACADEMIE DE PARIS

UNIVERSITE ENE DESCARTES

-:-

Année 1971 N°

T H E S E

pour le

DOCTORAT EN CHIRURGIE DENTAIRE

(Thèse de 3ème cycle)

par

Didier, Paul LOBJOIE

Né le 2 juin 1937 à Paris

Docteur en médecine dentaire
de l'Université de Genève

-:-

Présentée et soutenue publiquement le

-:-

# ETUDE BIOPHYSIQUE DES MODIFICATIONS DE L'EMAIL DENTAIRE PROVOQUEES PAR L'APPLICATION LOCALE ET L'INGESTION DE FLUOR

-:-

Président de Thèse : Monsieur Gérard MILHAUD (Professeur)

-:-

DACTYLO-SORBONNE
8, rue Casimir Delavigne
PARIS - 6ème
1971

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Président de l'Université
René Descartes : Mr le Professeur R. FREZAL

Chargé de mission : : Mr LENA J.

Conservateurs : Melles DUMAITRE P.
LE NOIR G.

Bibliothécaires : Mmes CONTET J., FORGET,
VALLIN, DEMANEE
Melles ROBERGE D.,
LE QUANG

Par délibération en date du 9 décembre 1798,
l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les
dissertations qui lui seront présentées, doivent
être considérées comme propres à leurs auteurs,
et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation,
ni improbation.

A ma femme

A mon maître,

Monsieur le Professeur C.A. BAUD

Professeur à la Faculté de Médecine de Genève
Directeur de l'Institut de morphologie de l'Université de Genève
Correspondant national de l'Académie de Médecine

Qu'il veuille bien accepter l'expression de notre profonde reconnaissance pour la direction qu'il a donnée à nos recherches et pour l'intérêt qu'il nous a constamment témoigné

A Monsieur le Professeur Gérard MILHAUD

Professeur à la Faculté de Médecine de Paris

Biologiste des Hôpitaux de Paris

Qui nous a fait le grand honneur d'accepter la présidence de cette thèse

Qu'il soit assuré de notre gratitude
et de notre profond respect

A Monsieur le Professeur Robert WEILL

Docteur en chirurgie dentaire
Professeur à l'Université René Descartes
Chevalier de la Légion d'Honneur

et à Monsieur le Professeur Pierre TREYSSAC

Médecin stomatologiste
Docteur en chirurgie dentaire
Professeur au centre de soins, d'enseignement et de recherches dentaires. Université PARIS VII
Chevalier de la Légion d'Honneur

Qui ont accepté avec bienveillance de participer à notre jury de thèse.
Sincères remerciements.

# ETUDE BIOPHYSIQUE DES MODIFICATIONS DE L'EMAIL DENTAIRE PROVOQUEES PAR L'APPLICATION LOCALE ET L'INGESTION DE FLUOR

-:-

# P L A N

-:-

INTRODUCTION

RADIOANALYSE A LA MICROSONDE ELECTRONIQUE

1 - Principes généraux et description de l'appareil

1.1. Principes généraux

1. Description de l'appareil

2 - Matériel et méthodes

2.1. Préparation des échantillons

2.2. Méthode d'analyse

3 - Résultats

3.1. Répartition topographique du fluor

3.2. Evaluation quantitative du fluor

4 - Discussion

4.1. Données bibliographiques concernant la distribution topographique du fluor dans l'émail à l'aide du radioanalyseur à microsonde électronique

4.2. Mesures de concentration en fluor

4.3. Comparaison avec les méthodes chimiques

ANALYSE CRISTALLOGRAPHIQUE PAR DIFFRACTION DES RAYONS X ET DES ELECTRONS

1 - Matériel et méthodes

1.1. Matériel

1.2. Préparation des échantillons

1.3. Traitement des poudres d'émail

1.4. Traitement des surfaces polies d'émail

1.5. Diffraction des rayons X

1.6. Diffraction électronique

2 - Résultats

2.1. Dents naturellement riches en fluor

2.2. Email traité par des solutions fluorées

2.2.1. Dosages chimiques du fluor

2.2.2. Diffraction des rayons X

2.2.3. Diffraction électronique

3 - Discussion

3.1. Données bibliographiques concernant la formation de fluorure de calcium

3.1.1. Mise en évidence du fluorure de calcium sur les surfaces polies d'émail par diffraction des rayons X

3.1.2. Mise en évidence du fluorure de calcium dans les poudres d'émail par diffraction des rayons X

3.1.3. Mise en évidence du fluorure de calcium par diffraction électronique

3.2. Données bibliographiques concernant la formation de fluorapatite

3.3. Données bibliographiques concernant la réaction de l'émail avec le fluorure stanneux

3.4. Discussion des résultats

3.4.1. Ingestion fluor et formation d'apatite fluorée

3.4.2. Traitement de l'émail par les solutions fluorées : formations de fluorure de calcium et de fluorapatite

3.4.3. Traitement de l'émail par le fluorure stanneux

3.4.4. Mécanisme d'action du fluor

CONCLUSIONS

BIBLIOGRAPHIE

-:-

# I N T R O D U C T I O N

-:-

Véritable fléau social, la carie dentaire est l'une des maladies les plus répandues. Depuis 25 ans, les chercheurs étudient le rôle du fluor dans la prophylaxie de la carie dentaire (cf. F.J. McCLURE, "Water Fluoridation", Bethesda, National Institut of Dental Research, 1970). Leurs études statistiques sur des populations vivant dans des régions où l'eau est plus ou moins riche en fluor montrent une diminution d'environ 50 % de la fréquence des caries lorsque la concentration en fluor est de l'ordre de 1 à 2 mg/litre. Des résultats identiques sont obtenus par adjonction de fluorures dans les circuits de distribution d'eau potable. Enfin, l'administration quotidienne per os de comprimés de fluorure de sodium, l'application locale de solutions fluorées à la surface des dents, ainsi que l'utilisation de dentifrices fluorés, réduisent également de manière significative le nombre des caries.

Toutefois, les mécanismes d'action des fluorures sur l'émail dentaire demeurent mal connus. Dans ce travail, nous nous sommes attaché d'abord à étudier les modifications cristallographiques de l'émail dentaire provoquées par l'application locale et l'ingestion de fluorure : nous avons utilisé la dif-

fraction des rayons X et la diffraction électronique pour déterminer la nature des produits de réaction formés à la surface et dans l'épaisseur de l'émail. Nous avons étudié ensuite la répartition topographique, à l'échelle microscopique, du fluor introduit et fixé dans l'émail dentaire après application locale et ingestion de fluorures : pour cela nous avons mis au point une technique sensible de détection du fluor au moyen du radioanalyseur à microsonde électronique.

-:-

# RADIOANALYSE A LA MICROSONDE ELECTRONIQUE

-:-

## 1 - PRINCIPES GENERAUX ET DESCRIPTION DE L'APPAREIL.

Utilisé surtout dans les domaines de la métallurgie et de la minéralogie, le radioanalyseur à microsonde électronique, mis au point en 1952 par CASTAING, peut être appliqué avec succès à l'étude des tissus biologiques minéralisés.

### 1.1. PRINCIPES GENERAUX

Lorsqu'un faisceau d'électrons accélérés sous une différence de pote tiel suffisamment élevée rencontre un matériau quelconque jouant le rôle d'anticathode, celui-ci émet un spectre de rayons X dont les raies sont caractéristiques des éléments chimiques présents.

Il est donc possible, par l'analyse du spectre des rayons X émis par un échantillon pris comme anticathode, de déterminer la composition chimique de cet échantillon.

Deux caractéristiques de cet instrument sont d'une importance fondamentale : un pouvoir de résolution d'approximativement 1 $\mu$m et une sensibilité variant entre 0,1 et 0,01 %, ce

qui signifie que $10^{-12}$ à $10^{-14}$ g d'un élément peut être détecté dans un volume de 1 $\mu m^3$.

Le premier travail concernant l'application du radio-analyseur à microsonde électronique à l'étude des tissus calcifiés de la dent a été effectué par BOYDE et coll. (1961).

De nombreuses observations se rapportant à la détection topographique d'éléments relativement lourds (étain, strontium, fer, calcium, chlore, soufre, phosphore et magnésium) dans l'os et la dent ont été publiées et un exposé d'ensemble en a été fait par BAUD et LOBJOIE (1966).

Adapté par ONG (1964) à la détection des éléments légers, le radioanalyseur permet de détecter maintenant le carbone, l'azote, l'oxygène et aussi le fluor, dont l'importance est particulièrement grande dans l'étude des tissus calcifiés. C'est ainsi qu'a pu être mise au point par BAUD et LOBJOIE (1966) une méthode permettant d'étudier la répartition topographique, qualitative et quantitative, du fluor dans l'émail dentaire avec une grande précision.

## 1.2. DESCRIPTION DE L'APPAREIL

L'appareil comprend un canon à électrons et une très bonne optique constituée de lentilles magnétiques analogues à celle d'un microscope électronique. Il règne dans l'appareil un vide de $10^{-5}$ mm Hg. Les lentilles magnétiques font converger le faisceau d'électrons de façon que sa surface d'impact sur l'échantillon soit bien définie et égale à environ 1 $\mu m^2$. Cette petite surface de l'échantillon bombardé joue ainsi le rôle d'anticathode et va émettre dans toutes les directions un

faisceau de rayons X dont l'analyse spectrale est effectuée grâce à des spectrographes à rayons X.

Le repérage de l'échantillon mis en place dans l'appareil est fait à l'aide d'un microscope optique, ce qui permet de préciser à chaque instant quelle est la région de la préparation effectivement soumise au faisceau électronique.

## 2 - MATERIEL ET METHODES.

### 2.1. PREPARATION DES ECHANTILLONS.

Le matériel utilisé pour ces observations comprend :

- des dents humaines ayant fait leur éruption et ne présentant pas de carie. Certaines ont été traitées pendant 15 et 120 minutes par une solution aqueuse à 1 % de fluorure de sodium, puis lavées et essuyées de façon à éliminer la couche de fluorure de calcium déposée à la surface de l'émail ;
- des dents humaines adultes naturellement riches en fluor provenant d'une région où l'eau de consommation est riche en fluor (district de Laurion en Grèce).

Les fragments destinés à être analysés, ainsi que leur milieu d'inclusion, doivent remplir un certain nombre de conditions, à savoir :

1/ résister au vide de $10^{-5}$ mm Hg qui règne dans l'appareil ;
2/ résister au bombardement électronique intense ;
3/ être conducteurs ou rendus conducteurs ;
4/ avoir une surface plane parfaitement polie.

Le problème le plus délicat est l'obtention d'une

surface plane avec un poli parfait tout en évitant une usure plus forte des bords de la préparation. Les métallurgistes savent que lorsque la dureté de la pièce à polir est plus grande que celle du milieu d'inclusion, une usure plus rapide de ce dernier se produit, surtout lors du polissage final, créant une dénivellation entre la pièce à polir et son milieu d'inclusion ainsi qu'une usure plus marquée des bords de la pièce.

Examinée au radioanalyseur à microsonde électronique, la moindre irrégularité de bordure risque de produire des artéfacts qu'il serait difficile de distinguer d'une réelle variation de concentration en fluor. Pour éviter cette usure des bords, nous avons mis au point un procédé spécial pour le montage des échantillons (fig. 1). Nous utilisons des bagues en acier d'environ 1 cm de diamètre, de 6 mm de haut et de 1 mm d'épaisseur qui, après cémentation, trempe et revenu, présentent une durée de 400 unités Vickers, dureté correspondant aux couches superficielles de l'émail dentaire humain. Comme matière d'enrobage, nous nous servons de l'amalgame d'argent qui a l'avantage d'être conducteur et de résister au faisceau électronique contrairement au méthacrylate qui se sublime au contact des électrons et encrasse l'appareil.

La dent est placée au centre du cylindre, débordant en hauteur ce dernier de 1 à 2 mm, et l'amalgame est foulé avec un instrument dentaire fin dans l'espace laissé libre entre les parois du cylindre et la dent. Il faut que cet espace soit le moins grand possible, mais néanmoins suffisant pour y fouler convenablement l'amalgame d'argent. Le cylindre tenu à la main, la dent est usée par les procédés habituels (machine à user et polir de COOKE, THROUGHTON et SIMMS) jusqu'au niveau du cylindre puis sur du papier abrasif mouillé n° 600. Le polissage final

est obtenu avec de l'eau et de l'alumine sur une plaque vibrante électromagnétique (machine de WIRTZ, construite selon les indications de PETZOW et coll., 1962).

Le bord de l'émail est contrôlé au microscope optique Ultraphot II Zeiss à un grossissement de 800 x en lumière réfléchie. Il n'est pas nécessaire, après ce polissage de changer la mise au point lorsque l'on passe de l'émail à l'amalgame, ce qui fournit la preuve d'une usure parfaitement plane même sur les bords de la préparation.

Enfin, on rend la surface conductrice de l'électricité et de la chaleur en y déposant par évaporation sous vide une très minde couche de carbone, d'aluminium ou de nickel. Ceci évite à la fois l'accumulation de charges négatives au point d'impact du faisceau électronique, et l'échauffement trop important de la préparation.

## 2.2. METHODE D'ANALYSE.

Le radioanalyseur à microsonde électronique ARL équipé des accessoires nécessaires pour la détection des éléments légers, a été choisi ; il s'est révélé spécialement bien adapté à ce genre d'investigation.

L'échantillon est placé dans l'appareil, et la zone à analyser est déterminée. Le faisceau d'électrons, dont le diamètre est d'environ 1 $\mu$m, explore la surface repérée. Les rayons X émis par la préparation sous l'influence du bombardement électronique sont caractéristiques des éléments qu'elle contient ; le rayonnement K $\alpha$ du fluor (fig. 2) est sélectionné au moyen d'un spectromètre et enregistré par un compteur. L'image de la répartition du rayonnement K $\alpha$ du fluor dans la zone

Fig. 2

La raie K α du fluor, obtenue avec le radioanalyseur à microsonde électronique

balayée par le faisceau d'électrons est reçue sur l'écran fluorescent d'un tube cathodique, et photographiée.

Des mesures statiques point par point permettent de mesurer exactement la concentration en fluor aux endroits choisis, en utilisant comme étalon une apatite naturelle dont la teneur en fluor est connue.

## 3 - RESULTATS.

Les résultats portent sur des dents témoins normalement fluorées, des dents fluorées artificiellement et des dents naturellement riches en fluor.

### 3.1. REPARTITION TOPOGRAPHIQUE DU FLUOR.

Dans les images obtenues, les points blancs correspondent à la distribution du fluor dans l'échantillon ; ils sont d'autant plus nombreux que cet élément est plus abondant et permettent une évaluation semi-quantitative.

Les dents témoins présentent une répartition assez homogène du fluor dans l'épaisseur de l'émail.

Les dents fluorées artificiellement ont une couche externe avec une forte concentration en fluor, à laquelle fait suite une zone riche en fluor dans les couches superficielles de l'émail correspondant aux 10 à 20 premiers µm.

La concentration en fluor des dents naturellement riches en fluor est supérieure à celle des dents témoins dans les couches superficielles de l'émail, mais la couche externe à très

forte concentration observée dans les dents fluorées artificiellement fait défaut.

Les trois exemples suivants illustrent les résultats obtenus. Le premier (fig. 3) a été fourni par une dent témoin non traitée, qui montre une distribution assez uniforme du fluor dans les couches superficielles de l'émail. Le second (fig. 4) provient d'une dent traitée 15 minutes par le fluorure de sodium à 1 % à pH neutre puis lavée ; en surface, on met en évidence une couche très riche en fluor, épaisse d'environ 10 à 20 µ m. Dans le troisième (fig. 5), qui correspond à une dent naturellement fluorée, la couche de surface précédemment décrite n'existe pas, mais la concentration en fluor est plus forte dans les couches superficielles de l'émail correspondant aux 10 à 20 premiers µ m.

### 3.2. EVALUATION QUANTITATIVE DU FLUOR.

Dans les dents témoins pauvres en fluor, la concentration de cet élément est faible bien qu'elle s'élève légèrement dans les couches superficielles. Un exemple en est donné dans la fig. 6. La concentration en fluor à la surface de la dent témoin est de 580 ppm et de 300 ppm à 25 µm de profondeur.

Dans les dents provenant d'une région où l'eau de consommation est riche en fluor et dans les dents traitées par application locale d'une solution de fluorure de sodium, la concentration en fluor dans les couches superficielles de l'émail correspondant aux 10 à 20 premiers µm est beaucoup plus élevée que dans les dents témoins, puis décroît très rapidement pour atteindre à quelques dizaines de microns sous la surface des valeurs qui ne diminuent plus que très peu en direction de la jonction émail-dentine.

Fig. 1

Préparation prête pour l'examen au radioanalyseur à microsonde électronique. On voit, dans un tube d'acier, la tranche de dent polie, entourée d'amalgame.

Grossissement 4 x.

Fig. 3

Dent humaine témoin, coupe transversale. Image formée par le rayonnement F K α émis par la zone périphérique de l'émail, montrant une répartition assez uniforme du fluor.

Grossissement 360 x.

Fig. 4

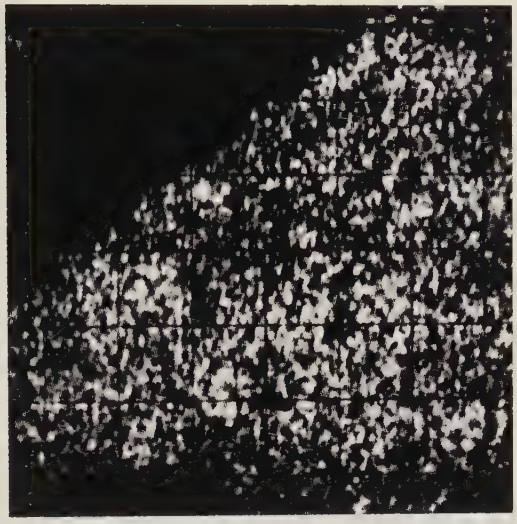
Dent humaine traitée localement par lz fluorure de sodium, coupe longitudinale. Image formée par le rayonnement F $K_\alpha$ émis par la zone périphérique de l'émail montrant l'existence (à gauche) d'une très forte concentration en flux à la surface et dans les couches superficielles de l'émail.

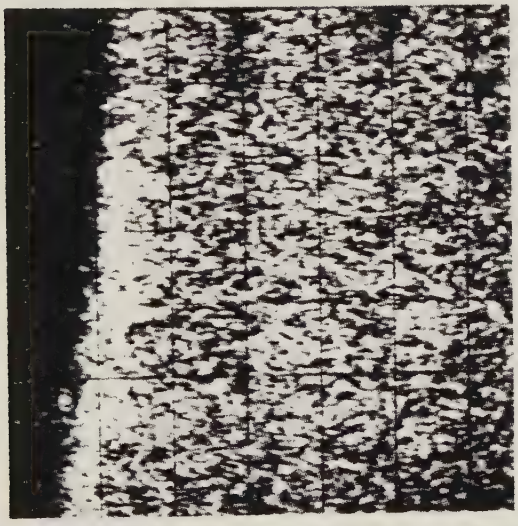
Fig. 5

Dent extraite chez un habitant de Lancion (district fluoré de Grèce).

Coupe longitudinale.

Image fournie par le rayonnement F $K_\alpha$ émis par la zone périphérique de l'émail montrant l'existence (en haut) d'une couche superficielle plus riche en fluore.





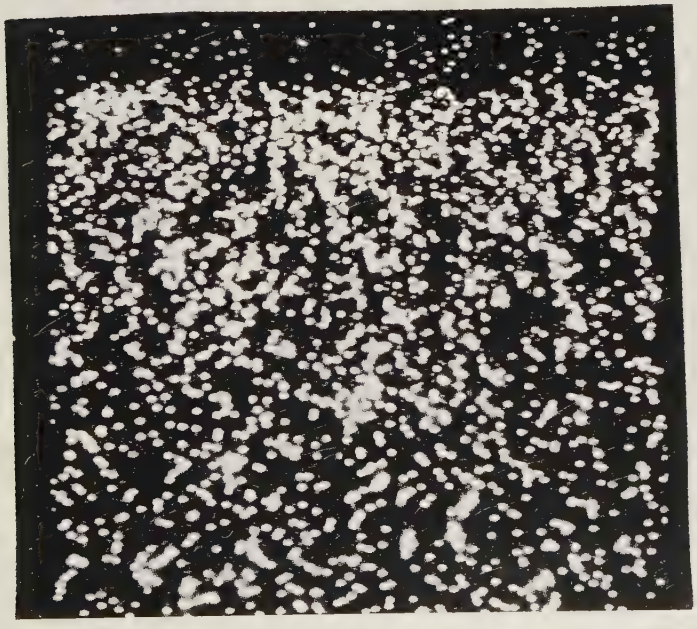


Fig. 6

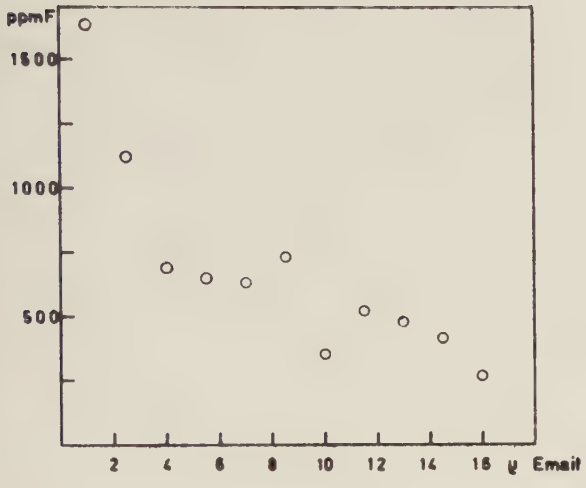
Distribution du fluor, de la surface de l'émail jusqu'à une profondeur de 16 microns, mesurée tous les 1,5 microns sur une section transversale au moyen du radioanalyseur à microsonde électronique ; dent humaine provenant d'une région où l'eau de consommation est naturellement fluorée (Laurion).

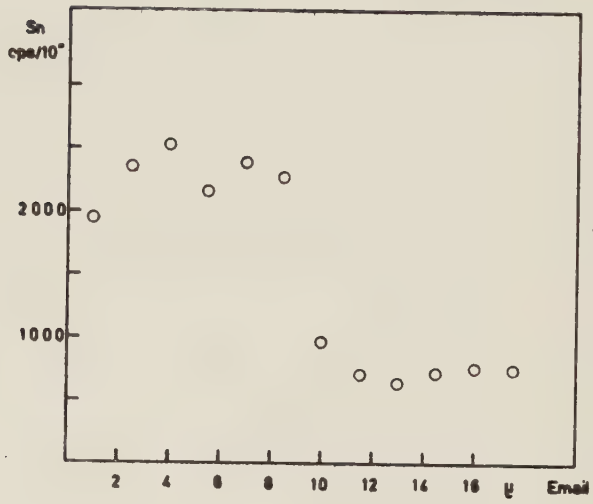
Fig. 7

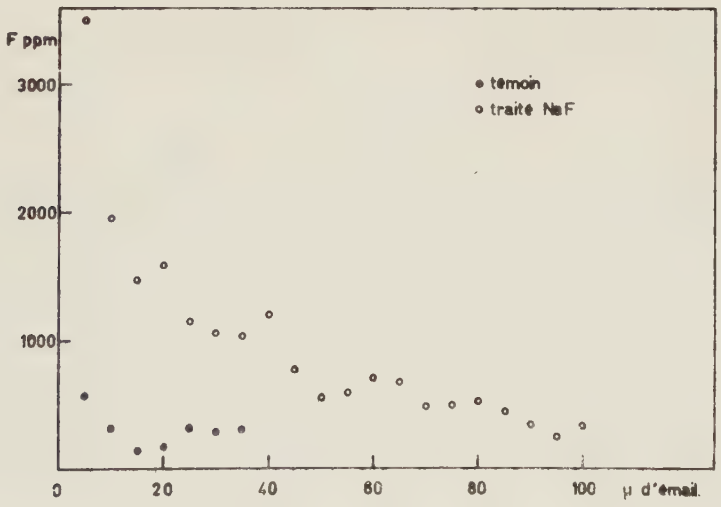
Distribution de l'étain de la surface de l'émail jusqu'à une profondeur de 18 microns, mesurée tous les 1,5 microns, sur une section transversale, au moyen du radioanalyseur à microsonde électronique ; dent humaine traitée pendant 10 minutes par une solution contenant 0,2 % de $SnF_2$.

Fig. 8

Distribution du fluor de la surface de l'émail jusqu'à une profondeur de 100 µm mesurés tous les 5 µm au moyen du radioanalyseur à microsonde électronique. Email de dent humaine témoin et traitée par une solution aqueuse de fluorure de sodium pendant deux heures puis lavée pendant une minute à l'eau distillée.


ppmF
1500
1000
500
2
4
6
8
10
12
14
16
µ Email


Sn
cps/10"
2000
1000
2
4
6
8
10
12
14
16
µ
Email


F ppm
3000
2000
1000
0
20
40
60
80
100
µ d'émail.
• témoin
o traité NaF

Ainsi, pour une dent traitée par une solution de fluorure de sodium pendant deux heures, la concentration en fluor qui est d'environ 3.400 ppm à la surface de l'émail, s'abaisse rapidement à 1.200 ppm à 25 µm sous la surface, pour atteindre à 90 µm sous la surface, des valeurs de l'ordre de 350 ppm qui ne diminuent que très peu jusqu'à la jonction émail-dentine.

Si l'on utilise une solution de fluorure stanneux en application topique à la surface de la dent, à la place de fluorure de sodium, l'étain peut être détecté sur une profondeur de 5 à 20 µm sous la surface de l'émail à des concentrations qui atteignent 20.000 ppm (fig. 7).

Sur une dent naturellement riche en fluor (fig. 8) la concentration en fluor, qui est d'environ 1.600 ppm à la surface de l'émail, s'abaisse à 300 ppm à une profondeur de 16 µm, et ensuite diminue très lentement jusqu'à la jonction émail-dentine où elle atteint 200 ppm.

## 4 - DISCUSSION.

### 4.1. DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES CONCERNANT LA DISTRIBUTION TOPOGRAPHIQUE DU FLUOR DANS L'EMAIL A L'AIDE DU RADIO-ANALYSEUR A MICROSONDE ELECTRONIQUE.

La technique d'étude et les premières observations concernant la répartition topographique de cet élément dans des tranches usées et polies d'émail dentaire ont été présentées par BAUD et LOBJOIE (1966).

La pénétration du fluor, sa distribution topographique dans l'émail dentaire humain traité par application locale d'une solution fluorée phosphatée acide ont été étudiées par BAUD et

BANG (1970). Ces auteurs ont mis en évidence, dans des échantillons non lavés après le traitement, une couche externe très riche en fluor, à laquelle fait suite une couche moins riche ; mais après lavage prolongé à l'eau distillée, la plus grande partie du fluor de la couche externe est éliminée et celui de la couche interne persiste. Dans notre étude, les échantillons qui ont été lavés soigneusement à l'eau distillée une minute, conservent une concentration élevée en fluor dans les couches superficielles.

## 4.2. MESURES DE CONCENTRATION EN FLUOR.

Les premiers dosages quantitatifs du fluor par radioanalyse d'une tranche d'émail dentaire ont été présentés par BAUD et LOBJOIE (1966).

Une étude systématique de l'enrichissement de l'émail en fluor sous l'influence d'une application locale de solution fluorée phosphatée acide a été faite par BAUD et BANG (1970) et les valeurs obtenues sont voisines de celles présentées dans ce travail.

Enfin POUËZAT a étudié avec cet instrument l'influence du courant électrique sur la migration des ions $F^-$ dans l'émail dentaire humain, et n'a constaté aucune différence entre les dents traitées par application locale d'une solution fluorée et celles traitées par ionophorèse.

## 4.3. COMPARAISON AVEC LES METHODES CHIMIQUES.

Les autres techniques utilisées pour l'étude de la distribution du fluor dans l'émail dentaire font appel à l'analyse microchimique. Elles consistent à doser le fluor dans des

échantillons de couches successives d'émail obtenus soit par moulage (BRUDEVOLD et coll., 1956) soit par attaque au moyen d'acides forts (COOLEY, 1961 ; WEATHERELL et HARGREAVES, 1965). Les résultats sont comparables à ceux obtenus par BAUD et BANG (1970), POUËZAT (1970) et nous même par radioanalyse. Les différences observées sont dues aux conditions opératoires particulières concernant le temps de traitement, la température, les concentrations des solutions fluorées et la façon dont sont lavés les échantillons après traitement.

Pour mémoire nous donnons ici un ordre de grandeur des concentrations en fluor dans l'émail dentaire :

- dans les couches superficielles des dents témoins les concentrations sont de l'ordre de 300 à 1.000 ppm de fluor ;
- dans les couches superficielles des dents traitées par des solutions de fluorure de sodium les concentrations sont de l'ordre de 1.000 à 4.000 ppm de fluor si les échantillons sont lavés après traitement ;
- s'ils ne le sont pas ou peu, les taux peuvent atteindre 10.000 ppm de fluor ;
- dans les couches profondes de toutes les dents les concentrations sont de l'ordre de 100 à 300 ppm de fluor.

L'utilisation d'une solution de fluorure de sodium phosphatée acide entraîne une plus grande fixation de fluor sur l'émail comme l'ont constaté BRUDEVOLD et coll. (1963) et MELLBERG (1966) par dosage chimique. BAUD et BANG (1970) et POUËZAT (1970) confirment ce résultat en utilisant la radioanalyse.

Alors que par dosage chimique BRUDEVOLD (1963) ne constate pratiquement pas d'enrichissement en fluor dans les couches

superficielles des dents traitées par une solution de fluorure stanneux, POUËZAT par radioanalyse, observe que l'enrichissement en fluor est faible mais comparable à celui obtenu avec une solution aqueuse de fluorure de sodium.

Quelle que soit la méthode utilisée pour obtenir un enrichissement de la dent en fluor (ingestion de fluor ou application locale à la surface de la dent), il se forme une couche superficielle d'émail riche en fluor.

La question se pose de savoir sous quelle forme il est fixé dans l'émail. C'est au moyen de la diffraction des rayons X et de la diffraction électronique que nous avons abordé cette question.

-:-

## ANALYSE CRISTALLOGRAPHIQUE PAR DIFFRACTION DES RAYONS X ET DES ELECTRONS

-:-

Il est généralement admis que deux réactions différentes peuvent se produire entre le fluor et la substance minérale de l'émail dentaire (GIESECKE et RATHJE, 1941). En présence de faibles quantités de fluor, il se formerait de la fluorapatite :

$$(PO_4)_6Ca_{10}(OH)_2 + 2F^- \longrightarrow (PO_4)_6Ca_{10}F_2 + 2(OH)^-$$

alors que de fortes concentrations en fluor conduiraient à la formation de fluorure de calcium :

$$(PO_4)_6Ca_{10}(OH)_2 + 20F^- \longrightarrow 10CaF_2 + 6(PO_4)^{---} + 2(OH)^-$$

La diffraction des rayons X et la diffraction électronique offrent la possibilité de mettre en évidence ces deux substances, dont les conditions d'apparition n'ont pas encore fait l'objet d'une investigation systématique. Les recherches dont les résultats sont relatés dans cet exposé ont été consacrées à cette étude cristallographique.

# 1 - MATERIEL ET METHODES

## 1.1. MATERIEL.

Le matériel utilisé pour cette étude comprend :

- des dents de vaches adultes soumises pendant longtemps à un régime riche en fluor par suite de retombées de poussières fluorées sur les prairies où elles broutaient (région de Saint-Jean de Maurienne) ;
- des dents humaines adultes provenant du district fluoré de Laurion (Grèce) ;
- des dents de vaches adultes provenant de régions pauvres en fluor (Suisse) ;
- des dents humaines adultes provenant de régions pauvres en fluor, obtenues à l'Institut de médecine dentaire de Genève.

## 1.2. PREPARATION DES ECHANTILLONS.

Des couches successives d'émail de dents humaines et animales, provenant de districts fluorés, ont été prélevées par meulage, selon la méthode de BRUDEVOLD, GARDNER et SMITH (1956). Les poudres ainsi obtenues ont été broyées au mortier d'agate. Une partie a servi pour le dosage chimique du fluor selon la technique de WILLARD et WINTER (1933) ; le reste a été mélangé à une substance de référence (NaCl) pour la diffraction des rayons X.

Des fragments d'émail prélevés sur les faces vestibulaires des incisives de vaches provenant de régions pauvres en fluor ont été ajustés côte à côte et enrobés dans du méthacry-

late dans le but d'obtenir, après usure et polissage, une mosaïque d'émail de surface suffisante pour couvrir entièrement la fenêtre du porte-objets du diffractomètre.

L'émail d'environ 100 dents humaines adultes provenant de régions pauvres en fluor (Suisse) a été réduit en poudre par meulage, mélangé et broyé au mortier d'agate. Une partie de cet important lot de poudre a servi pour le dosage chimique du fluor. Le reste a été traité par différentes solutions fluorées, puis examiné par diffraction des rayons X et diffraction électronique.

Des incisives humaines de même origine (Suisse) ont été utilisées entières. Après polissage des faces vestibulaires sur du papier abrasif n° 600, on a obtenu des zones suffisamment grandes pour faire des répliques de surface qui ont été examinées par diffraction électronique avant et après traitement.

### 1.3. TRAITEMENT DES POUDRES D'EMAIL.

Le traitement consiste à mettre au contact de la poudre d'émail une solution contenant un sel de fluor.

Nous avons employé des solutions contenant des concentrations fortes ou faibles en fluorure :

- 2 % de NaF dans l'eau distillée, acidifiée à pH 3,5 par HCl ;
- 2 % de NaF dans une solution à 0,1 M de phosphate de sodium, acidifiée à pH 4,3 par l'acide phosphorique (BRUDEVOLD, SAVORY, GARDNER, SPINELLI et SPEIRS, 1963) ;
- 2 % de NaF dans une solution à 0,15 M d'acide phosphorique à pH 3,6 (PAMEIJER, BRUDEVOLD et HUNT, 1963) ;
- solutions à 0,16 M - 0,016 M - 0,0016 M de NaF dans l'eau dis-

tillée, acidifiées à pH 5 par l'acide phosphorique (solutions contenant de 3.000 à 30 ppm de fluor) ;
- 2 % de $SnF_2$ dans l'eau distillée, à pH 3.

Toutes ces solutions ont été préparées et conservées dans des récipients en polyvinyl. Les solutions de $SnF_2$ ont été préparées extemporanément.

La technique employée est celle de BRUDEVOLD, SAVORY, GARDNER, SPINELLI et SPEIRS (1963). Nous avons traité des lots de 100 mg de poudre par 100 $cm^3$ de solution en agitant continuellement à l'aide d'un agitateur magnétique ; la suspension est filtrée sur millipore (pores à 0,45 µm) et lavée avec 200 $cm^3$ d'eau distillée. Les temps de traitement ont varié de une minute à 19 heures, la température de 20 à 40° C.

## 1.4. TRAITEMENT DES SURFACES POLIES D'EMAIL.

Les mosaïques d'émail de vache et les surfaces polies d'émail humain ont été immergées dans les solutions fluorées utilisées pour le traitement des poudres, dans les mêmes conditions de temps, de température et de pH, puis rincées à l'eau distillée.

Nous avons également mis en contact avec des surfaces polies d'émail, pendant 15 minutes, plusieurs produits fluorés :

- le GA 297 (hydrofluorure dérivé de la série des propyldiamines);
- le dentifrice Elmex (au GA 297) ;
- le dentifrice Fluocaril ($SnF_2$ 0,27 % ; NaF 0,075 %) ;
- la pâte de Lukomski (NaF, glycérine, kaolin, aâ) ;
- actifluor (NaF 0,063 %, $SnF_2$ 0,118 %).

## 1.5. DIFFRACTION DES RAYONS X.

La diffraction des rayons X permet :

- de déceler l'état cristallin ou amorphe d'une substance par l'obtention ou non d'un diagramme ;
- de déterminer à quelle espèce cristalline elle appartient par la mesure de la position et l'intensité des raies du diagramme.

Pour obtenir une première indication des composants cristallins, les poudres ont été étudiées à l'aide d'une caméra à monochromateur et focalisation de Guinier.

L'étude radiocristallographique précise a été effectuée selon la technique de BAUD et SLATKINE (1962), avec un diffractomètre Philips à compteur proportionnel et discriminateur d'impulsions. Pour la recherche des fluorapatites, les mesures ont été effectuées sur la raie (130) qui est bien individualisée, assez intense, et ne dépend que du paramètre a. Elle a de plus l'avantage de se trouver au voisinage de la raie (220) du chlorure de sodium utilisé comme substance de référence (a = 5,6275 Å, selon SWANSON et FUYAT, 1953). Chaque mesure a été effectuée 10 fois, avec la raie de référence NaCl. La précision obtenue est de l'ordre de $\pm$ 0,001 Å. Pour la détection du $CaF_2$, nous avons recherché les raies (111) d = 3,153 Å, (220) d = 1,931 Å, (311) d = 1,647 Å. Nous avons examiné avec le diffractomètre des poudres et des surfaces polies d'émail (mosaïque d'émail de vache) traitées par les différentes solutions fluorées.

## 1.6. DIFFRACTION ELECTRONIQUE.

La diffraction électronique a été effectuée avec les appareils Zeiss EM 9 et Philips EM 75 C.

La technique que nous avons utilisée pour la diffraction électronique sur poudre est la suivante : des grilles de microscope électronique, recouvertes d'un film de formvar, puis aluminées (substance de référence), sont posées sur un papier adhésif double face collé sur les parois d'une petite boîte de Petri contenant la poudre d'émail traitée. En agitant vigoureusement la boîte de Petri, une partie de la poudre adhère à la grille qui est alors prête pour l'examen par diffraction électronique.

Dans le cas des mosaïques d'émail de vache et des surfaces polies d'émail humain, des répliques de surfaces ont été obtenues par la technique de SCOTT et WYCKOFF (1956). Cette technique permet d'arracher de la surface de l'émail un certain nombre de cristaux que l'on peut examiner par diffraction électronique.

## 2 - RESULTATS.

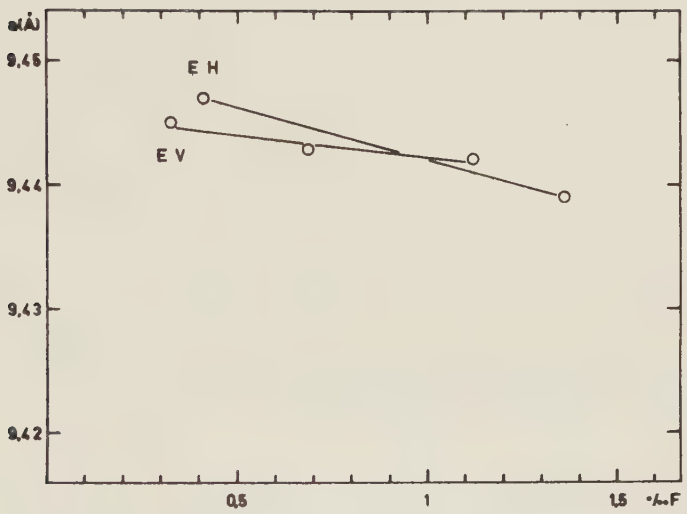
### 2.1. DENTS NATURELLEMENT RICHES EN FLUOR.

Les dents provenant des régions riches en fluor (dents de vache de la région de Saint-Jean de Maurienne et dents humaines provenant de Grèce) ont une teneur élevée en fluor dans les couches superficielles de l'émail, beaucoup plus faible dans les couches profondes (dosages chimiques).

L'analyse radiocristallographique de ces poudres d'émail dentaire fait apparaître une relation entre la longueur du côté a de la maille élémentaire des cristaux de la substance minérale

Fig. 9

Variations du paramètre a de la maille élémentaire dans les cristaux de la substance minérale de l'émail dentaire (exprimé en angströms), en fonction de la teneur en fluor (exprimée en % du poids de la substance minérale).
E H : émail humain ;
E V : émail de vache.


a(Å)
9,45
9,44
9,43
9,42
E H
E V
0,5
1
1,5
%F

et la teneur en fluor de l'échantillon ; cette longueur a diminue lorsque la teneur en fluor augmente (fig. 9).

C'est ainsi que, chez l'un des animaux de la série, les valeurs observées sont : dans les couches profondes a = 9,4450 ± 0,0008 Å pour F = 302 ppm, et dans les couches superficielles a = 9,4421 ± 0,0007 Å pour F = 1155 ppm. Pour un lot d'émail dentaire provenant d'habitants de Laurion (Grèce), les valeurs observées sont : dans les couches profondes a = 9,447 ± 0,002 Å pour F = 410 ppm, et dans les couches superficielles a = 9,439 ± 0,001 Å pour F = 1360 ppm.

Chez les témoins, la dimension de a est en moyenne de 9,450 ± 0,002 Å pour F = 185 ppm.

Le raccourcissement de a, qui prouve que le fluor est bien incorporé dans le réseau cristallin, est plus important que celui que l'on pourrait prévoir pour une transformation d'hydroxylapatite en fluorapatite ; par contre, il est compatible avec une transformation de carbonato-hydroxyl-apatite en carbonato-fluorapatite.

En utilisant soit une caméra de Guinier avec enregistrement photographique, soit la diffractométrie avec enregistrement graphique, nous n'avons jamais détecté de $CaF_2$, même dans les couches superficielles des échantillons les plus riches en fluor.

## 2.2. EMAIL TRAITE PAR DES SOLUTIONS FLUOREES.

### 2.2.1. Dosages chimiques du fluor.

Les dosages chimiques du fluor effectués sur des poudres d'émail, prélevées par couches successives sur des dents humaines saines traitées pendant une heure par une solution contenant

2 % de NaF à pH 3,5 (acidifiée parHCl), indiquent qu'une grande quantité de fluor s'est fixée à la surface et dans les couches superficielles de l'émail (tableau I).

TABLEAU I

| Couches d'émail | Quantité prélevée (pour 6 dents) mg | ppm F |
|---|---|---|
| 1 | 30 | 7600 |
| 2 | 43 | 2900 |
| 3 | 32 | 1950 |
| 4 | 51 | 1000 |

2.2.2. Diffraction des rayons X

Les diagrammes de diffraction des rayons X de poudre d'émail et de surface d'émail (mosaïque d'émail de vache) avant immersion dans les solutions fluorées montrent toujours un diagramme d'apatite ; mais après immersion dans une solution à 2 % de NaF à pH acide, les raies du $CaF_2$ apparaissent. Cette formation de $CaF_2$ est d'autant plus intense que le temps de traitement est plus long, le pH de la solution plus acide et la température plus élevée.

En comparant le diagramme de la poudre d'émail témoin (fig.10 a) avec celui de la même poudre traitée pendant 45 minutes par une solution aqueuse à 2 % de NaF acidifiée à pH 3,5 par HCl (fig. 10 b), on remarque immédiatement les raies de $CaF_2$ : raie (111) d = 3,153, raie (220) d = 1,931 et raie (311) d = 1,647.

Ces raies de $CaF_2$ sont déjà très intenses dans les poudres traitées pendant une minute par le réactif de BRUDEVOLD (fig. 10c), ou pendant une heure par des solutions 0,16 M (fig. 10d) et 0,016 M (fig. 10 e) de NaF acidifiées à pH 5 par l'acide phosphorique ; par contre, elles ne sont pas visibles après traitement de la poudre pendant une heure par une solution 0,0016 M de NaF dans les mêmes conditions (fig. 10 f).

Les mêmes solutions fluorées ont été utilisées pour traiter des surfaces d'émail (mosaïque d'émail de vache), et nous avons obtenu des résultats identiques à ceux fournis par les poudres. L'intensité des raies est moins forte, ce qui peut s'expliquer par la formation d'une quantité moindre de $CaF_2$ du fait d'une surface d'échange moindre.

Ni les poudres, ni les surfaces d'émail ainsi traitées n'ont montré une diminution du paramètre a de la maille élémentaire.

Les poudres traitées pendant une heure par une solution 0,016 M de NaF acidifiée à pH 5 par l'acide phosphorique, puis chauffée à 900° C pendant 6 heures, donnent un diagramme avec les raies de $CaF_2$ et un déplacement des raies de l'apatite caractéristique de l'incorporation de F dans le réseau (fig. 10 g).

Après traitement par une solution aqueuse de $SnF_2$ à pH 3, les surfaces d'émail et les poudres montrent seulement un diagramme d'apatite (fig. 10 h). Si on chauffe à 900°C pendant six heures les poudres ainsi traitées, on voit apparaître distinctement les raies de la cassitérite $SnO_2$ ainsi que les raies de la whitlockite (fig. 10 i) ; de plus on observe dans le diagramme d'apatite un déplacement des raies (231-321) (140-410) (402) vers la raie (004), correspondant à la formation d'une fluorapatite ou d'une carbonato-fluorapatite.

Fig. 10

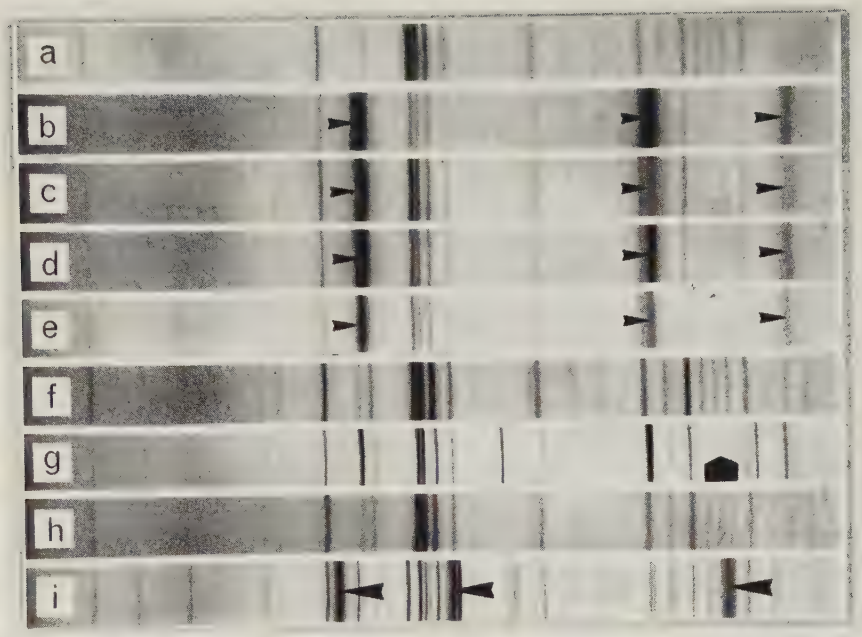
Diagrammes de diffraction des rayons X fournis par des poudres d'émail dentaire humain (caméra Guinier)

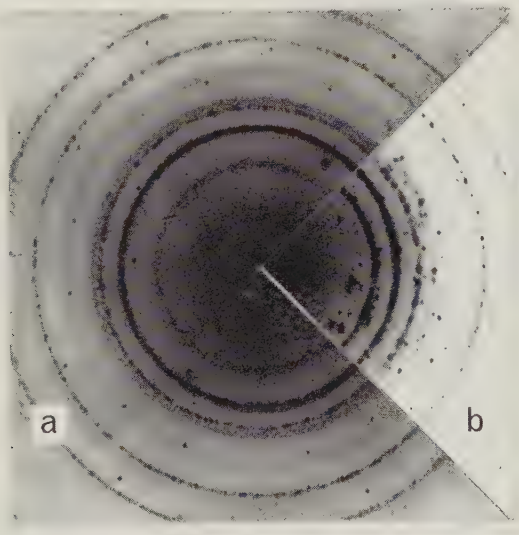
Fig. 11

Diagrammes de diffraction électronique fournis par des répliques de surfaces polies d'émail.

a) surface traitée pendant 15 minutes par le GA 297 ; la raie la plus proche du centre est la raie (111) du $CaF_2$

b) surface traitée pendant une heure par une solution 0,0016 M de NaF (contenant 30 ppm de F) acidifiée à pH 5 par l'acide phosphorique ; la raie (111) de $CaF_2$ est ponctuée.


a
b
c
d
e
f
g
h
i


a
b

2.2.3. Diffraction électronique.

La diffraction électronique est une méthode plus sensible que la diffraction des rayons X pour mettre en évidence de faibles quantités de fluorure de calcium formées à la surface de l'émail.

Les diagrammes obtenus à partir de répliques de surfaces polies d'émail traitées pendant 15 minutes par le GA 297 montrent la formation de $CaF_2$ (fig. 11 a). Les dentifrices Elmex (au GA 297) et Fluocaril, ainsi que la pâte de Lukomski, forment également du $CaF_2$ mais en moindre quantité.

Les raies de $CaF_2$ se remarquent également dans les diagrammes de poudres et de répliques de surfaces d'émail traitées pendant une minute par les solutions aqueuses à 2 % de NaF acidifiées à pH 3,5 par Hcl, à pH 3,6 par l'acide phosphorique, ou à pH 4,3 par l'acide phosphorique en présence de phosphate de sodium.

La diffraction électronique permet de montrer aussi que même des solutions aqueuses 0,0016 M de NaF (contenant seulement 30 ppm de $F^-$) acidifiées à pH 5 par l'acide phosphorique réagissent avec la poudre et la surface polie d'émail pour former du $CaF_2$ après une heure de contact (fig. 11 b). Les raies de diffraction sont dans ce cas discontinues, formées chacune d'une succession de points ; ce phénomène est dû à l'existence de cristaux de $CaF_2$ relativement gros.

Lorsque de la poudre ou des surfaces polies d'émail sont traitées par une solution de $SnF_2$ à 2 % à pH 3, les diagrammes de diffraction électronique ne montrent pas la formation de $CaF_2$: seules les raies de l'apatite sont visibles.

# 3 - DISCUSSION

## 3.1. DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES CONCERNANT LA FORMATION DE FLUORURE DE CALCIUM.

De nombreux auteurs ont montré par diffraction des rayons X et par diffraction électronique la présence de $CaF_2$ dans l'émail dentaire exposé à des solutions fluorées concentrées.

### 3.1.1. Mise en évidence du fluorure de calcium sur les surfaces polies d'émail par diffraction des rayons X.

C'est GEROULD (1945) qui le premier a trouvé du $CaF_2$ par diffraction des rayons X sur de l'émail poli, attaqué légèrement par HCl et traité par une solution aqueuse de NaF à 4 % pendant un mois (pH non précisé). Pour SYRRIST (1949), des surfaces d'émail meulé, traitées pendant une longue période par une solution saturée de NaF in vitro ou in situ ne présentent pas une structure cristalline autre que celle de l'émail normal. Ce résultat négatif peut être dû au fait que pendant le meulage, destiné à obtenir la poudre à tester, les particules de $CaF_2$ probablement formées à la surface de l'émail sont mélangées aux particules beaucoup plus nombreuses des couches profondes ; la proportion de $CaF_2$ est alors trop faible pour être détecté avec le type de caméra utilisée par cet auteur. En traitant des surfaces polies d'émail pendant une heure à 20° C avec agitation, des raies de $CaF_2$ apparaissent dans le diagramme, et après traitement à 100° C pendant 3 heures la structure de l'apatite est complètement masquée par celle du $CaF_2$. Dans un cas, l'auteur

obtient un diagramme de $CaF_2$ à partir d'une incisive traitée in situ 7 fois en 10 jours (pendant une période totale de 70 minutes) par une solution saturée de NaF.

TRAUTZ (1951) immerge un échantillon d'émail humain dans une solution aqueuse à 2 % de NaF pendant deux semaines et obtient un diagramme avec deux raies du $CaF_2$ (à 28°3 et 47°2, CuK $\alpha$), la bande d'émail de 50 x 80 µm était coupée parallélement aux prismes de l'émail et montée sur l'axe d'une caméra à poudre.

PERDOK (1952) traite par une solution de NaF à 2 % acidifiée à pH 5,2 par l'acide phosphorique un cylindre d'émail taillé dans une incisive de souris ; il obtient les raies du $CaF_2$ sur le diagramme de diffraction des rayons X.

FISCHER, ELSHEIMER et MUHLER (1954), en traitant des surfaces de molaires de lait et des dents humaines adultes polies, par différentes solutions fluorées, constatent que les raies de $CaF_2$ apparaissent après 15 minutes avec une solution à 2 % de FH à pH < 1, et après 3 ou 4 heures avec une solution à 2 % de NaF à pH 4. Cette transformation est plus rapide à pH 3 qu'à pH 4 ; elle est plus rapide avec $Na_2SiF_6$ à 0,4 % à pH 3,3 qu'avec NaF à 2 % à pH 3. Mais la structure de l'apatite persiste complètement même après une semaine de traitement lorsqu'il s'agit de solutions de $SnF_2$ à 2 % à pH 3,5 ou d'une solution de $Na_2PO_3F$ à 2 % à pH 6,7.

BRUDEVOLD (1960) indique que du $CaF_2$ se forme à la surface de dents traitées par des silicofluorures à pH bas.

TRAUTZ et ZAPANTA (1961) confirment les résultats de TRAUTZ (1951) et concluent que le mode d'action du NaF sur l'émail est le remplacement du carbonate et du phosphate secondaire de calcium par le $CaF_2$.

### 3.1.2. Mise en évidence du fluorure de calcium dans les poudres d'émail par diffraction des rayons X.

Les résultats obtenus sont les mêmes pour les poudres et pour les surfaces polies d'émail, mais les modifications apparaissent plus tôt dans le cas de la poudre à cause de la plus grande surface d'échange.

Du $CaF_2$ s'est formé en quantité suffisante pour être visible sur les diagrammes de diffraction des rayons X de poudre d'émail traitée par une solution de NaF à 2 % pendant 30 minutes à 35-40°C selon GEROULD (1945).

SYRRIST (1949) ne signale pas s'il obtient des résultats plus rapides avec les poudres.

FISCHER et MUHLER (1952) constatent que le traitement de l'émail pulvérisé par des solutions de NaF à pH 3 et 4 pendant des temps variant de 5 minutes à une heure provoque la transformation de l'apatite en $CaF_2$ et que la concentration de la solution et la durée du traitement sont des facteurs importants. Avec une solution de fluor à 0,06 % à pH 4, la transformation n'est visible par diffraction des rayons X qu' après une heure de traitement.

PERDOK (1952) trouve à côté des raies de l'hydroxylapatite les raies (111) (220) et (311) du $CaF_2$ dans les diagrammes d'émail pulvérisé, traité par une solution aqueuse de NaF à 2 % acidifiée à pH 5,2 par l'acide phosphorique, alors que seules les raies de l'apatite sont visibles si le pH de la solution est neutre.

D'autre part, FISCHER, MUHLER et WUST (1954) constatent que le silico-fluorure de sodium provoque la formation de $CaF_2$ avec la poudre d'émail, mais plus lentement que le fluorure de

potassium, pour la même concentration (0,03 % de F) à pH 3. Cette réaction est cependant plus facilement mise en évidence par les diagrammes de diffraction des rayons X, ce qui suggère qu'elle n'est pas étroitement localisée à la surface des particules de la poudre. Par contre, le monofluorophosphate de sodium ne change pas la structure de l'apatite en $CaF_2$, même après une immersion d'une semaine dans une solution à 2 % à pH 2.

Il faut noter enfin que, si le $CaF_2$ formé dans l'échantillon est en faible proportion ou très mal cristallisé, il n'apparaît pas dans le diagramme de diffraction des rayons X ; selon LINDEMANN (1956), il faut ajouter à la poudre d'os au minimum 1 % de $CaF_2$ pour pouvoir identifier les raies de cette substance.

Enfin BAUD et BANG (1970), sur des poudres d'émail traitées par des solutions fluorées phosphatées acides à pH 3 contenant 1,23 % de fluor, voient apparaître les raies du $CaF_2$ mais celles-ci disparaissent après un lavage prolongé des échantillons. Pour POUËZAT (1970) dont les échantillons sont fortement lavés après traitement, les raies de $CaF_2$ ne sont pas visibles par diffraction des rayons X.

### 3.1.3. Mise en évidence du fluorure de calcium par diffraction électronique.

Lorsque la diffraction des rayons X montre les raies de $CaF_2$ dans un matériel expérimental, la diffraction électronique les met également en évidence : c'est ce que prouvent les observations de GEROULD (1945), SYRRIST (1949), SCOTT, PICARD et WYCKOFF (1950), GRAY, SCHWEIZER, ROSEVEAR et BROGE (1958). Mais le diagramme de diffraction électronique montre plutôt les raies de $CaF_2$ dans l'émail, ce qui se conçoit facilement, puisque le

diagramme X renseigne sur l'ensemble de la structure cristalline, tandis que la diffraction électronique indique la structure localisée à la surface des microcristaux.

La poudre d'émail traitée pendant 5 minutes par une solution aqueuse de fluorure de sodium à 0,06 % de F acidifiée à pH 4 fournit déjà un diagramme comportant les raies de $CaF_2$, alors que le diagramme de diffraction des rayons X est encore uniquement celui de l'apatite, comme l'ont montré FISCHER et MÜHLER (1952) ; le traitement pendant une heure par une solution aqueuse de fluorure de potassium à 0,03 % de F acidifiée à pH 4 donne les mêmes résultats (FISCHER, MUHLER et WUST, 1954).

Un traitement de deux secondes par une solution aqueuse à 2 % de fluorure de sodium suffit même, selon MATSUMIYA (1957), pour faire apparaître les raies du fluorure de calcium dans le diagramme de diffraction électronique.

Le fluorure de calcium se présente au microscope électronique sous forme d'un dépôt dont l'épaisseur augmente en fonction de la concentration en NaF, du temps de traitement, de la température de la solution et de la diminution du temps de rinçage de l'échantillon, et du pH de la solution (GEROULD, 1945 ; SYRRIST, 1949 ; SCOTT, PICARD et WYCKOFF, 1950 ; MATSUMIYA, 1957 ; GRAY, SCHWEIZER, ROSEVEAR et BROGE, 1958 ; SCOTT, 1960).

### 3.2. DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES CONCERNANT LA FORMATION DE FLUORAPATITE.

L'étude radiocristallographique du phénomène de l'incorporation du fluor in vivo dans la substance minérale de l'émail dentaire n'a fait jusqu'ici l'objet que de rares mentions. Le plus souvent les auteurs se fondent sur des constatations chimi-

ques effectuées in vitro pour supposer la formation de fluorapatite (FALKENHEIM et HODGE, 1947 ; NEUMAN, NEUMAN, MAIN, O'LEARY et SMITH, 1950 ; McCANN, 1953 ; McCANN et BULLOCK, 1955 ; LEACH, 1959 ; MALAOWALLA et MYERS, 1962 ; BRUDEVOLD, SAVORY, GARDNER, SPINELLI et SPEIRS, 1963).

SYRRIST (1949) par diffraction électronique sur des poudres d'émail traité par une solution de NaF à 2 % trouve le paramètre $\underline{a}$ = 9,36 Å au lieu de $\underline{a}$ = 9,41 Å pour des poudres témoins non traitées. Cette contraction du paramètre $\underline{a}$ lui fait envisager la possibilité d'une transformation de l'hydroxylapatite en fluorapatite, mais il n'ose l'affirmer étant donné les erreurs de lecture possibles sur des raies souvent diffuses et faibles.

Seul KOLLER (1950) dit avoir observé, dans le cas de poudre d'émail et de dentine traitées pendant 24 heures par une solution aqueuse à 2 % de NaF à pH 4, un diagramme de diffraction des rayons X comportant une position des raies intermédiaires entre celle de l'hydroxylapatite et celle de la fluorapatite ; mais cet auteur a pris les constantes réticulaires de ces deux substances l'une pour l'autre, de sorte que ses résultats ne peuvent être considérés comme sûrs.

PERDOCK (1952) donne comme valeur pour la fluorapatite $\underline{a}$ = 9,377 Å et pour l'hydroxylapatite $\underline{a}$ = 9,420 Å ; mais dans le cas de poudre d'émail dentaire traité par une solution de KF à 2 % à pH 5,2, il ne peut mettre en évidence par diffraction des rayons X aucune contraction du réseau cristallin ; il pense soit qu'il n'y a pas de fluorapatite formée soit que la transformation à température ordinaire s'effectue sans changement de taille de la maille élémentaire.

Dans un diagramme de diffraction des rayons X de la substance minérale de la dent de requin, TRAUTZ (1955) a remarqué un retrécissement prononcé du paramètre a (la dent de requin contient beaucoup plus de fluor que la dent humaine normale).

FISCHER, RING et MUHLER (1956), mettent au point une méthode pour distinguer la fluorapatite de l'hydroxylapatite par la diffraction des rayons X avec enregistrement sur film photographique. Ils constatent que dans le cas de la poudre d'émail dentaire traité par des réactifs fluorés, la fluorapatite n'est jamais visible, même lorsque le traitement est si poussé que le $CaF_2$ formé devient le composant dominant.

TORELL (1957, 1958) ne décèle aucune différence de dimension des paramètres a et c par la diffraction des rayons X sur l'émail et sur la dentine de dents humaines provenant de régions où l'eau de boisson est riche (2 ppm) ou pauvre (moins de 0,3 ppm) en fluor. Ce résultat négatif peut être dû soit à l'emploi d'une technique insuffisamment précise, soit à la teneur en fluor trop faible des échantillons (aucun dosage chimique n'a été effectué).

De même FUZIE (1961) ne trouve pas de différences significatives entre des poudres d'os et de dents de vaches soumises à un régime normal ou intoxiquées par le fluor (plus de 1200 ppm).

Enfin, SCOTT et SCOTT (1959) étudient la diffraction des rayons X de deux échantillons d'émail ; l'un servant de témoin et l'autre ayant été localement traité par le fluor environ 8 ans auparavant. Ce dernier montre un élargissement des raies de diffraction d'ordre élevé qui pourrait correspondre à une diminution de la cristallinité.

Selon FRAZIER et ENGEN (1966) il se produit une diminution du paramètre a de la maille élémentaire qui passerait de

9,438 à 9,306 Å. Un changement aussi grand paraît peu vraisemblable, comparé à ceux obtenus avec l'émail naturellement fluoré par BAUD et BUCHS (1965) et BAUD et LOBJOIE (1967).

En utilisant une méthode plus sensible que la nôtre, BAUD, BANG et BAUD (1967) ont mis en évidence, sur des poudres d'émail traitées 70 heures par une solution fluorée phosphatée acide, contenant 1,23 % de fluor à pH approximativement 3 (solution de WELLOCK et BRUDEVOLD, 1963), un raccourcissement du côté a de la maille élémentaire apatitique correspondant à une incorporation du fluor dans le réseau cristallin. Pour BAUD et BANG (1970), ce raccourcissement est de 0,0156 Å lorsque la teneur en fluor passe de 373 ± 234 à 3.152 ± 268 ppm. POUËZAT (1970) confirme ces résultats.

### 3.3. DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES CONCERNANT LA REACTION DE L'EMAIL AVEC LE FLUORURE STANNEUX.

Lorsque les surfaces polies ou les poudres d'émail sont traitées par des solutions de $SnF_2$ au lieu de NaF, toutes les autres conditions étant identiques, la teneur en fluor des échantillons n'est que très légèrement supérieure à celle des témoins, comme le montrent les dosages effectués par BRUDEVOLD, SAVORY, GARDNER, SPINELLI et SPEIRS (1963).

Il ne se forme pas, dans ce cas, de $CaF_2$ détectable par diffraction des rayons X (FISCHER, ELSHEIMER et MUHLER, 1954). Les diagrammes de diffraction électronique de l'émail ainsi traité indiquent la présence d'un matériel amorphe, qui peut devenir cristallin après traitement thermique, mais qui n'est ni de l'apatite ni du $CaF_2$ (FISCHER, MUHLER et WUST, 1954). Ce matériel déposé à la surface de l'émail a été isolé par SCOTT (1960) et identifié à de l'hydroxyde stanneux hydraté.

## 3.4. DISCUSSION DES RESULTATS.

### 3.4.1. Ingestion de fluor et formation d'apatite fluorée.

Nos observations concernant l'émail naturellement fluoré ayant montré un retrécissement du paramètre a de la maille élémentaire proportionnel à la teneur en fluor, il est possible d'affirmer que le fluor ingéré est incorporé dans le réseau cristallin de la substance minérale de l'émail dentaire in vivo, si l'on admet que tout changement des paramètres est :

1) l'indice d'une substitution

2) proportionnel à la concentration du substituant pour autant qu'il soit distribué au hasard parmi les positions possibles.

L'incorporation du fluor dans les cristaux se produit non seulement lors de l'adamantogénèse, mais encore après l'éruption dans les couches superficielles de l'émail en contact avec la salive riche en fluor ; ces couches montrent en effet un retrécissement du paramètre a correspondant aux taux de fluor qu'elles ont acquis secondairement.

La mesure du paramètre a montre d'autre part que la réaction qui se produit n'est pas une transformation d'hydroxylapatite en fluorapatite, mais plutôt de carbonato-hydroxylapatite en carbonatofluorapatite, du même genre que celle qui a lieu dans la substance minérale osseuse (BAUD et SLATKINE, 1962 ; SLATKINE, 1962 ; BAUD et BUCHS, 1965).

Les taux de fluor étant toujours beaucoup plus faibles que dans l'os, seule une technique très précise permet de mettre en évidence les légères modifications de longueur du paramètre a ; ainsi s'expliquent les constatations négatives quant à la

formation d'une fluorapatite (PERDOK, 1952 ; FISCHER, RING et MUHLER, 1956 ; TORELL, 1957, 1958 ; FUZIE, 1961).

3.4.2. Traitement de l'émail par les solutions fluorées : formations de fluorure de calcium et de fluorapatite.

Nous avons observé, après traitement des surfaces polies ou des poudres d'émail par des solutions de NaF ou des dentifrices au fluor, la formation de $CaF_2$ détectable par diffraction des rayons X ou diffraction électronique. Contrairement aux observations négatives de BRUDEVOLD, SAVORY, GARDNER, SPINELLI et SPEIRS (1963), nous avons vu apparaître les raies de $CaF_2$ en utilisant des solutions de fluorure de sodium dans du phosphate sodique acidifié à pH 5 par l'acide phosphorique, même lorsque la concentration en fluor devient très faible (30 ppm). Mais il se forme beaucoup moins de $CaF_2$ avec les solutions fluorées phosphatées acides qu'avec les autres solutions de NaF à pH neutre.

Nos observations concernant l'émail traité par des solutions fluorées ne comportent pas de déplacement des raies de l'apatite correspondant à un retrécissement du paramètre a de la maille élémentaire. Mais les méthodes plus sensibles, mises au point par BAUD, BANG et BAUD (1967) ont permis à ces auteurs ainsi qu'à BAUD et BANG (1970) et POUËZAT (1970) de mettre en évidence un retrécissement du paramètre a de la maille élémentaire du cristal d'apatite dans les échantillons exposés à des solutions fluorées phosphatées acides. Ce retrécissement correspond à une substitution d'ions $F^-$ aux ions $OH^-$ dans le réseau cristallin.

Ce résultat prouve que l'application locale d'une solu-

tion fluorée phosphatée acide sur l'émail dentaire provoque une accumulation de fluor dans les couches superficielles sous forme d'apatite fluorée.

Il est possible d'ailleurs qu'après un temps suffisamment long le fluor provenant de $CaF_2$ formé lors du traitement par les solutions fluorées soit progressivement intégré au réseau cristallin de la substance minérale de l'émail, comme cela se produit dans la substance minérale osseuse au cours de la fossilisation en terrain contenant du fluor (BAUD, 1956).

3.4.3. Traitement de l'émail par le fluorure stanneux.

Le mécanisme de la réaction du fluorure stanneux sur l'émail dentaire n'est pas encore entièrement élucidé. Aucune observation cristallographique n'a permis de mettre en évidence la formation de $CaF_2$. Nous n'avons pas détecté les raies de diffraction des rayons X caractéristiques de l'hydroxyde stanneux hydraté (DONALDSON et MOSER, 1961), même en utilisant la méthode diffractométrique ; les conditions dans lesquelles elles ont été obtenues par SCOTT (1960) n'ont pas été précisées. Cependant, la formation d'hydroxyde stanneux hydraté et la libération de fluor expliqueraient la présence, après traitement thermique, de cassitérite et d'apatite fluorée.

3.4.4. Mécanisme d'action du fluor.

Plusieurs mécanismes théoriquement possibles ont été envisagés pour expliquer le rôle du fluor dans la prophylaxie de la carie dentaire :

- transformation de la substance minérale de l'émail en une fluorapatite, moins soluble que les hydroxylapatites, et moins facilement attaquable par les acides (VAN WAZER, 1958). Les ions

fluor sont situés à la périphérie des canaux de la structure cristalline où ils se sont substitués aux ions hydroxyles ; les ions fluor sont beaucoup plus fortement liés que les ions hydroxyles au réseau cristallin apatitique ; leur présence dans cette position réduit considérablement la solubilité des cristaux, comme le pensent YOUNG et coll. (1969) ;

- formation d'une couche superficielle stable d'émail riche en fluor, lequel serait libéré lors des décalcifications débutantes de la carie ; ce fluor empêcherait la formation de phosphates moins résistants que l'apatite comme la brushite ou le phosphate octocalcique (BRUDEVOLD, McCANN et GRØN, 1965), lors de la reprécipitation qui suit chaque attaque de l'émail ; ou encore il agirait sur le métabolisme des agents cariogènes par son pouvoir antienzymatique (BIBBY et VAN KESTEREN, 1940).

Quel que soit le mécanisme invoqué, la présence d'une couche superficielle stable d'émail riche en fluor est nécessaire. Cette couche est réalisée au mieux par la transformation de la substance minérale de l'émail en fluorapatite ; les couches de fluorure de calcium sont trop facilement éliminées par lavage et action mécanique.

La formation d'une couche superficielle de fluorapatite (ou de carbonat of luorapatite) peut être provoquée soit par l'ingestion de fluor, soit par l'application locale de solutions fluorées phosphatées acides. L'utilisation de l'ionophorèse dans l'espoir d'une intégration plus rapide du fluor dans l'émail ne se trouve pas justifiée par les observations récentes de POUËZAT (1970). Les dentifrices fluorés constituent des adjuvants, en provoquant la formation d'une couche de fluorure de calcium constamment renouvelée, peut être suivie à la longue d'une transformation fluorapatitique de la substance minérale de l'émail sous-jacent.

-:-

# C O N C L U S I O N S

-:-

La distribution topographique du fluor est mise en évidence par la radioanalyse à microsonde électronique :

- les dents témoins présentent une répartition assez homogène du fluor dans l'épaisseur de l'émail ;
- les dents fluorées artificiellement ont une couche externe avec une forte concentration en fluor, à laquelle fait suite une zone riche en fluor dans les couches superficielles de l'émail correspondant aux 10 à 20 premiers $\mu$ m ;
- les dents naturellement riches en fluor ont une concentration en fluor dans les couches superficielles de l'émail supérieure à celle des dents témoins, mais ne présentent pas de couche externe à très forte concentration comme les dents fluorées artificiellement.

L'analyse radiocristallographique de l'émail dentaire provenant d'hommes ou de vaches soumis à un régime riche en fluor pendant longtemps prouve que le fluor est incorporé dans le réseau cristallin apatitique pour former une fluorapatite (ou une carbonatofluorapatite).

L'étude par diffraction électronique et par diffraction des rayons X de l'émail dentaire par différentes solutions fluorées montre que le fluorure de sodium provoque dans tous les cas

la formation d'un dépôt de fluorure de calcium à la surface de l'émail.

L'application locale d'une solution fluorée phosphatée acide sur l'émail provoque, outre un dépôt de fluor à la surface de l'émail sous forme de fluorure de calcium, une fixation de fluor dans les couches superficielles de l'émail sous forme de fluorapatite ou de carbonat o fluorapatite.

L'importance pratique de ces constatations est que l'ingestion et l'application locale de fluorure peuvent enrichir les couches superficielles de l'émail en fluor. Ce fluor est stable et transforme la substance minérale en une apatite moins soluble dans les acides donc moins facilement attaquée par les agents cariogènes.

Pour l'organisme en formation la meilleure protection contre la carie est l'ingestion de fluor alors que chez l'adulte les applications locales constituent une technique rapide et une protection efficace. L'ingestion par la femme enceinte de comprimés de fluorure de sodium à la dose de 2 mg par jour (soit environ 1 mg de fluor) puis par l'enfant dès sa naissance, à dose appropriée, semble le meilleur moyen pour obtenir un enrichissement de la dent en fluor, dans les régions où l'eau de consommation est pauvre en fluor.

Cette prophylaxie de la carie dentaire est à compléter chez l'enfant et l'adulte par des applications locales, au cabinet dentaire, deux à quatre fois par an, d'une solution fluorée phosphatée acide type Luride. Cel gel fluoré permet outre le dépôt à la surface de la dent d'une couche de $CaF_2$ rapidement éliminée par lavage, un enrichissement notable des couches superficielles de l'émail en fluor sous forme fluorapatitique stable.

Les dentifrices fluorés constituent des adjuvants, en provoquant la formation à la surface de l'émail d'une couche de fluorure de calcium constamment renouvelée, peut être suivie à la longue d'une transformation fluorapatitique de la substance minérale de l'émail sous-jacent.

-:-

Vu :
Le Président de Thèse :
Signé : G. MILHAUD

Vu :
Le Président de
l'Université Descartes :
Signé : J. FREZAL

Vu et permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris :
Signé : R. MALLET

# B I B L I O G R A P H I E

-:-

BAUD C.A. - Etude biocristallographique des remaniements de la substance minérale osseuse en rapport avec son enrichissement en fluor.
C.R. Soc. Biol., 150, 103-105, 1956.

BAUD C.A. et BANG S. - Electron probe and X-ray diffraction microanalyses of human enamel treated in vitro by fluoride solution.
Caries Res. 4, 1-13, 1970.

BAUD C.A., BANG S. et BAUD J.P. - Modification du réseau cristallin de l'apatite dans l'émail dentaire traité par une solution fluorée acide.
C.R. Acad. Sc. Paris, 265, 1334-1336, 1967.

BAUD C.A. et BUCHS M. - Etude par diffraction des rayons X de la substance minérale de l'os et de l'émail dentaire fluorés in vivo.
In : Tooth enamel. Ed. by STACK M.V. et FEARNHEAD R.W., Wright, Bristol 1965, pp. 32-35.

BAUD C.A. et LOBJOIE D.P. - L'emploi du radioanalyseur à microsonde électronique pour l'étude de la distribution du fluor dans les coupes d'émail dentaire.
Ann. Histochim., 11, 151-156, 1966.

BAUD C.A. et LOBJOIE D.P. : Crystallographic study of the changes induced in dental enamel by topical application or ingestion of fluoride.
J. dent. Res., 46, 1244-1245, 1967.

BAUD C.A. et LOBJOIE D.P. - Données de l'analyse élémentaire des tissus calcifiés obtenues avec le radioanalyseur à microsonde électronique.

Rapp. Comm. 5ème Symp. Europ. Tissus Calcifiés. Bordeaux 1967. Ed. G. Milhaud, M. Owen, H.J.J. Blackwood, Paris, Sedes, 1968, pp. 369-375.

BAUD C.A. et SLATKINE S. - Données radiocristallographiques sur l'incorporation du fluor dans la substance minérale osseuse in vivo.
C.R. Acad. Sci., 255, 1801-1802, 1962.

BIBBY B.G. et VAN KESTEREN M. - The effect of fluorine on mouth bacteria.
J. dent. Res., 19, 391- 402, 1940.

BOYDE A., SWITSUR V.R. et FEARNHEAD R.W. - Application of the scanning electronprobe X-ray microanalyser to dental tissues.
J. Ultrastructure Res., 5, 201-207, 1961.

BRUDEVOLD F. - Depth of penetration of fluoride in erupted teeth.
J. dent. Res., 39, 1118, 1960.

BRUDEVOLD F., GARDNER D.E. et SMITH F.A. - The distribution of fluoride in human enamel.
J. dent. Res., 35, 420-429, 1956.

BRUDEVOLD F. et McCANN H.G. et GRØN P. - Caries resistance as related to the chemistry of the enamel.
In : Ciba Foundation Symposium on caries-resistant teeth. Ed. by WOLSTENHOLME G.E.W., O'CONNOR M., J. et A. CHURCHILL, London 1965, pp. 121-140.

BRUDEVOLD F., SAVORY A., GARDNER D.E., SPINELLI M. et SPEIRS R. - A study of acidulated fluoride solutions. I. In vitro effects on enamel.
Arch. oral Biol., 8, 167-177, 1963.

CASTAING R. - Application des sondes électroniques à une méthode d'analyse ponctuelle chimique et cristallographique.
Thèse, Paris, 1952.

COOLEY W.E. - Reaction of tin (II) and fluoride ions with etched enamel.
J. dent. Res., 40, 1199-1210, 1961.

DONALDSON J.D. et MOSER W. - Hydrous tin (II) oxide.
J. chem. Soc., 1, 835-838, 1961.

FALKENHEIM M. et HODGE H.C. - A note on the mechanism of fluoride fixation.
J. dent. Res., 26, 241-246, 1947.

FISCHER R.B., ELSHEIMER H.N. et MUHLER J.C. - The effects of several fluoride reagents on the structure of whole teeth.
J. dent. Res., 33, 538-541, 1954.

FISCHER R.B. et MUHLER J.C. - The effect of sodium fluoride upon the surface structure of powdered dental enamel.
J. dent. Res. 31, 751-755, 1952.

FISCHER R.B., MUHLER J.C. et WUST C.J. - Effects of several fluoride reagents on the surface structure of powdered dental enamel.
J. dent. Res., 33, 50-54, 1954.

FISCHER R.B., RING C.E. et MUHLER J.C. - X-ray study of fluorapatite formation during the fluoride treatment of powdered dental enamel.
J. dent. Res., 35, 773-777, 1956.

FRAZIER P.D. et ENGEN D.W. - X-ray diffraction study of the reaction acidulated fluoride with powdered enamel.
J. dent. Res., 45, 1144-1148, 1966.

FUZIE S. - Nutritional studies on fluorine. III. The relation between the mandible's and incisor's strongness or hardness and their fluorine content.
J. agric. chem. Soc. Japan, 35, 155-159, 1961.

GEROULD C.H. - Electron microscope study of the mechanism of fluorine deposition in teeth.
J. dent. Res., 24, 223-233, 1945.

GIESECKE F. et RATHJE W. - Zur Kenntnis der Phosphate, III. Mitteil : Hydroxyl-Fluor-apatit, das Mineral der Rohphosphate.
Ber. dtsch. chem. Ges. 74, 349-356, 1941.

GRAY J.A., SCHWEIZER H.C., ROSEVEAR F.B. et BROGE R.W. - Electron microscopic observations of the differences in the effects of stannous fluoride and sodium fluoride on dental enamel.
J. dent. Res., 37, 638-648, 1958.

KOLLER S. - Die Veränderungen des Schmelzes durch Applikation von Fluornatrium röntgenographisch gesehen.
Öst. Z. Stomatol., 47, 229-232, 1950.

LEACH S.A. - Reactions of fluoride with powdered enamel and dentine.
Brit. dent. J., 106, 133-142, 1959.

LINDEMANN G. - Røntgendiffraktionsundersøgelse af knogle-og tandvaev fra rotter med kronisk eksperimentel fluorose.
Odontologisk Tidskrift, 64, 17-29, 1956.

MALAOWALLA A. et MYERS H.M. - Interaction of sodium fluoride and synthetic apatite.
J. dent. Res., 41, 413-419, 1962.

MATSUMIYA S. - Electron microscopical studies on the dental caries and its prevention.
In : Medico dental Researches on Fluorides.
Ed. by UTZINO S. The Japan Society for the Promotion of Science, Tokyo, 1957, pp. 240-246.

McCANN H.G. - Reactions of fluoride ion with hydroxylapatite.
J. biol. Chem., 201, 247-259, 1953.

Mc CANN H.G. et BULLOCK F.A. - Reactions of fluoride ion with powdered enamel and dentin.
J. dent. Res., 34, 59-67, 1955.

McCLURE F.J. - "Water fluoridation" Bethesda, National Institut of Dental Research, 1970.

MELLBERG J.R. - Fluoride uptake by intact human tooth enamel from acidulated fluoride-phosphate preparations.
J. dent. Res., 45, 303-306, 1966.

NEUMAN W.F., NEUMAN M.W., MAIN E.R., O'LEARY J. et SMITH F.A. - The surface chemistry of bone. II. Fluoride deposition.
J. biol. Chem., 187, 655-661, 1950.

PAMEIJER J.H.N., BRUDEVOLD F. et HUNT E.E. - A study of acidulated fluoride solutions. III. The cariostatic effect of repeated topical sodium fluoride applications with and without phosphate : a pilot study.
Arch. oral biol., 8, 183-185, 1963.

PERDOK W.G. - Die Aufnahme von Fluorionen durch Zahnschmelz.
Schweiz. Mschr. Zahnheilk., 62, 249-269, 1952.

PETZOW G., GESSNER L. et HOLSCHER D. - Uber die Schliffherstellung nach dem Vibrationsverfahren.
Z. Metallkunde 53, 535-540, 1962.

POUËZAT J.A. - Influence d'un potentiel électrique sur la migration des ions fluor dans l'émail dentaire : étude biophysique.
Rev. mens. suisse Odonto-stomatol., 80, 661-681, 1970.

SCOTT D.B. - Electron-microscopic evidence of fluoride-enamel reaction.
J. dent. Res. 39, 1117, 1960.

SCOTT D.B., PICARD R.G. et WYCKOFF R.W.G. - Studies of the action of sodium fluoride on human enamel by electron microscopy and electron diffraction.
Publ. Hlth Rep., 65, 43-56, 1950.

SCOTT D.B. et WYCKOFF R.W.G. - Carbon surface replicas for electron microscopy and electron diffraction.
J. roy. microscop. Soc., 75, 217-222, 1956.

SCOTT E.A. et SCOTT F.H. - Broadening of the X-ray diffraction lines in teeth affectes by fluorine.
Nature 183, 479, 1959.

SLATKINE S. - Etude biocristallographique de l'incorporation du fluor dans la substance minérale osseuse in vivo.
Rev. mens. suisse Odonto-stomatol., 72, 1068-1087, 1962.

SWANSON H. E et FUYAT R.K. - Standard X-Ray diffraction powder patterns.
Circular North Bureau Stand. 539, part. 2, 41643, 1953

SYRRIST A. - Experimental studies on the effect of sodium fluoride on human dental enamel.
Odontol. Tidskr. 57, 7-39, 1949.

TORELL P. - Röntgendiffraktion av mjölktandsemalj fran tva omraden med olika halt av fluor i dricksvattnet.
Svensk Tandläk - T. 50, 653-656, 1957.

TORELL P. - Röntgendiffraktion av pulver fran Homo-dentin.
Svensk Tandläk - T. 51, 137-144, 1958.

TRAUTZ O.R. - Progress Report.
Public Health Service Research Grant D-36 (C2), 1951.

TRAUTZ O.R. - X-ray diffraction of biological and synthetic apatites.
Ann. N.Y. Acad. Sci., 60, 696-712, 1955.

TRAUTZ O.R. et ZAPANTA R.R. - Experiments with calcium carbonate phosphates and the effect of topical application of sodium fluoride.
Arch. oral Biol., 4, 122-133, 1961.

VAN WAZER J.R. - Phosphorus and its compounds. I. Chemistry.
Interscience Publishers, New-York, 1958, p. 522.

WEATHERELL J.A. et HARGREAVES J.A. - The micro-sampling of enamel in thin layers by means of strong acids.
Arch. oral Biol., 10, 139-142, 1965.

WELLOCK W.D. et BRUDEVOLD F. -
Arch. oral Biol., 8, 179-182, 1963.

WILLARD H.H. et WINTER O.B. - Volumetric method for determination of fluorine.
Indust. Eng. Chem., Anal. Edit., 5, 7-10, 1933.

YOUNG R.A., LUGT W.v.d. et ELLIOT J.C. - Mechanism for fluorine inhibition of diffusion in hydroxyapatite.
Nature, 223, 729-730, 1969.

-:-